

HiScript® Q RT SuperMix for qPCR

R122

Version 21.1



产品概述

HiScript Reverse Transcriptase是在M-MLV (RNase H-) Reverse Transcriptase基础上经过多点突变得到的全新逆转录酶，提高了热稳定性和cDNA合成效率。HiScript Q RT SuperMix for qPCR适用于两步法qRT-PCR检测，5 × qRT SuperMix中含有逆转录反应所需的所有组分，加入模板RNA和水即可迅速进行反应。RNA模板的体积最多可加到总体积的80%，非常适合于低浓度RNA模板的逆转录反应。5 × Mix在-20°C不会冻结，使用方便。

本产品针对qPCR进行特别优化，比例优化的Random primers/Oligo dT primer mix，使cDNA合成可从RNA转录本的各个区域起始并具有相同的逆转录效率，最大程度保证了qPCR结果的真实性和可重复性。逆转录产物兼容SYBR Green和探针法qPCR，可以根据实验目的，选择相应的试剂配合使用，进行高性能的基因表达分析。

产品组分

组 分	R122-01 100 rxns (20 µl/rxn)
RNase-free ddH ₂ O	2 × 1 ml
5 × qRT SuperMix ^a	400 µl
5 × No RT Control Mix ^b	40 µl

a. 包含Buffer、dNTP、HiScript Reverse Transcriptase、RNase inhibitor、Random primers/Oligo dT primer mix。

b. 除不含HiScript Reverse Transcriptase外，其余成分与5 × qRT SuperMix相同，用于配制No RT对照反应。

保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输。

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物RNA的逆转录反应，逆转录产物兼容染料法和探针法qPCR。

实验准备和指南

自备材料

RNase-free 1.5 ml离心管、0.2 ml PCR管、移液器吸头
移液器；PCR仪；冰或移动冰盒

RNA

高质量的完整的RNA对于获得高质量的cDNA是至关重要的。实验前请验证RNA的完整性。

qPCR试剂选择指南

第一链cDNA产物可直接用作qPCR反应的模板。建议作为模板的cDNA产物的体积不超过qPCR反应体积的1/10。可选择AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (Vazyme #Q111)、AceQ qPCR Probe Master Mix (Vazyme #Q112)或ChamQ SYBR qPCR Master Mix (Vazyme #Q311)作为qPCR试剂。

注意事项

1. 5 × HiScript qRT SuperMix及5 × No RT Control Mix含有高浓度的甘油，在使用前请短暂离心收集到反应管底部，并用移液枪轻轻吸打充分混匀后，准确吸取。
2. 20 μl逆转录反应体系建议加入不超过1 μg的Total RNA。如果目的基因表达量非常低，最多加入5 μg Total RNA，否则加入RNA量过高，可能会超出后续定量PCR的线性范围。反应体积可根据需要等比例放大。
3. 如果加入RNA模板体积较大(如超过2 μl)，请确保RNA是溶于水中而不是TE中，因为TE中的EDTA会对逆转录反应产生抑制。
4. 如果在qPCR实验中发现No RT Control的C_T值与实验组相差<5，则说明RNA模板有可能受到基因组DNA的污染。此时，可选择HiScript Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (Vazyme #R123-01)，以彻底消除基因组DNA的污染影响。
5. cDNA产物仅适用于qPCR反应，不适用于克隆等下游实验的长片段PCR扩增。如有需要，可使用HiScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme #R111)进行操作。

实验流程

1. 配制第一链cDNA合成反应液

在RNase-free离心管中配制如下混合液：

RNase-free ddH ₂ O	to 20 μl
5 × qRT SuperMix	4 μl
模板RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μg

用移液器轻轻吹打混匀。

No RT Control反应(可选)

No RT Control是指不加逆转录酶的逆转录阴性对照反应，用于检验RNA模板中是否有基因组DNA残留。

在RNase-free离心管中配制如下混合液：

RNase-free ddH ₂ O	to 20 μl
5 × No RT Control Mix	4 μl
模板RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μg

用移液器轻轻吹打混匀。

2. 进行逆转录反应

50°C*	15 min
85°C	2 min

* 如果模板具有复杂二级结构或高GC区域，可将反应温度提高至55°C，有助于提高产量。

产物可立即用于qPCR反应，或在-20°C保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在-70°C保存。cDNA应避免反复冻融。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。